

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—171659

⑬ Int. Cl.³
G 01 N 27/46

識別記号

庁内整理番号
7363—2G

⑭ 公開 昭和58年(1983)10月8日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑮ 電気化学センサー

⑯ 特 願 昭57—55026

⑰ 出 願 昭57(1982)4月1日

⑱ 発 明 者 今井章博

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

⑲ 発 明 者 南海史朗

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

⑳ 発 明 者 中司真理子

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

㉑ 発 明 者 飯島孝志

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

㉒ 出 願 人 松下電器産業株式会社

門真市大字門真1006番地

㉓ 代 理 人 弁理士 中尾敏男 外1名

明 細 書

1、発明の名称

電気化学センサー

2、特許請求の範囲

(1) 目的物質を検出する電極系、妨害物質を除去する電極系、および酵素を溶解している電解質溶液を有し、前記妨害物質を除去する電極系の構成要素の一つである導電性薄膜を有する多孔質膜を被検液側に配したことを特徴とする電気化学センサー。

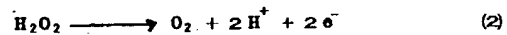
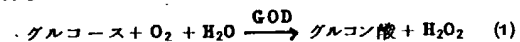
(2) 電解質溶液を強制流動させる手段を有する特許請求の範囲第1項記載の電気化学センサー。

3、発明の詳細な説明

本発明は、分析、特に生体成分の分析に適した電気化学センサーに関する。

生体成分分析において、必要とする成分を検出する場合、しばしば共存しているいくつかの物質が必要な成分の分析精度を妨害することがある。一例として、血液あるいは尿中のグルコースを電気化学的に定量する場合について説明する。

グルコースはグルコースオキシダーゼ(以下、GODと略す)触媒により(1)式の反応をする。生成したH₂O₂は(2)式に示した電気化学反応を起こす。



この時生じた電流量を測定することによりグルコースの濃度を求めることができる。

GODの作用により生成したH₂O₂を上記のように電気化学的に検出する場合、グルコースとともに共存しているアスコルビン酸、尿酸等も同様に酸化反応を起こして酸化電流を生じる。そのためグルコースのみの酸化電流よりも大きな酸化電流を生じて結果的に正の誤差を与える。

このようなアスコルビン酸、尿酸等の妨害物質を除く方法として、従来提案されている方法は、妨害物質と検出すべき被測定物質の分子(あるいは物質)の大きさに注目して、分子の大きさ(分子量など)の大小の差を利用した分離膜の利用である。この原理をグルコース測定の場合を例にとり説明すると、アスコルビン酸、尿酸等分子量の

大きい妨害物質は通過できないが、反応により生成した H_2O_2 は、分子量が小さいため通過して検出電極により検出され、結果的に妨害物質の影響のないグルコースの濃度を測定できる。このような分離膜の例として、アセチルセルロース膜、セロハン膜等がよく知られている。又、分離膜の他の例として、非対称膜として知られる逆浸透膜の利用がある。これは、一方の面が粗い多孔質で、他方の面が密な多孔質から構成されており、この密な面で分子量の違う物質の通過を区別して分離する機能を利用したものである。

これらの分離膜を利用した電気化学センサーの従来例を第1図に示した。1は分離膜である。2, 3, 4はそれぞれ作用電極、対極、参照極で、これらが検出電極系を構成する。酵素は分離膜1上に固定化されている。固定化が難しい酵素の場合は、被検液5中に溶解されている。血液等がマイクロシリンジ6により注入されると、被検液5中に溶解している酵素あるいは分離膜1に固定化されている酵素と反応して反応生成物を与える。こ

低下する酵素、あるいは被測定物質の検出に必要な各試薬類は、被検液5中に溶解して使用するため、測定毎に廃棄しなければならなかった。そのため、コレステロールオキシダーゼのように高価な酵素の使用の場合は、特に不経済である。

本発明は、以上のような不都合のない電気化学センサーを提供するものである。

すなわち、本発明は、少なくとも目的物質を検出する電極系、妨害物質を除去する電極系、および、酵素を溶解している電解質溶液を有し、前記妨害物質を除去する電極系の構成要素の一つである導電性薄膜を有する多孔質膜を被検液側に配したことを特徴とする電気化学センサーである。

本発明においては、分子の大きさにより妨害物質を区別する分離膜を用いるのではなく、電気化学的な処理により妨害物質を被測定物質と区別するため、従来の分離膜のようにグルコース等の被測定物質も通過させないものでなく、十分容易に通過できるものである。被測定物質は、多孔質膜中を通過してセンサー内の電解質溶液に到達して化

の反応生成物が分離膜1中を通過して作用電極2に到達して検出される。一方、血液中のアスコルビン酸等の妨害物質は、分離膜1の中を通過することができないので作用電極2に到達できない。

このように、従来知られている分離膜を用いた場合は、作用電極2により検出される目的物質を得る場合に必要な酵素、試薬類等は、被検液5中に溶解されているか、あるいは分離膜1に固定化されており、センサー内部の電解質溶液7中には存在していない。

その理由は、従来の分離膜を用いた場合には、グルコース等のように分子の大きさが妨害物質の分子の大きさとあまり違わない分子、あるいは、さらに大きい分子は、分離膜1を通過して行くことができないため、内部に酵素を含有した電解質溶液があっても、この酵素と反応することができなかったため、内部に酵素含有電解質溶液を保持する意味がなかったためである。

又、従来の分離膜を用いたセンサーにおいては、固定化が困難な酵素、固定化により著しく活性の

学反応を起こすことができる。又、固定化が困難あるいは固定化により著しく活性の低下する酵素、補酵素、あるいはその他の化学試薬等も内部液中に溶解して使用することができるため、使い捨ての必要がなく、たいへん測定対象物を広くとれ、しかも経済的なセンサーとなる。

本発明の一実施例として、第2図にセンサーの断面模式図を示して説明する。

本発明において、酵素を溶解している電解質溶液は、妨害物質を除去する導電性薄膜を有する多孔質膜を分離膜として、被検液と液絡はしているが分離されている状態にある。例えば、第2図において、電解質溶液15は、導電性薄膜11を有する多孔質膜14により被検液16と液絡はしているが分離されている。

ここで、上記の導電性薄膜を有する多孔質膜上に、導電性薄膜を有している、あるいは、有していない多孔質膜を、被検液側あるいは電解質溶液側から重ねて分離膜として用いてもよい。導電性薄膜を有している多孔質膜とは、少なくともその

片面に導電性薄膜が形成されているものである。

導電性薄膜は、その形成法を特に制限するものでない。例えば、真空蒸着法、イオンブレーティング法、スパッタリング法で作製すると良好な薄膜を形成することができる。導電性薄膜材料は、妨害物質に対して電気化学的に活性な材料であれば、特に制限されるものでない。多孔質膜の材料も特に制限されるものでなく、無機、有機あるいは両者の混合材料を用いることができる。

電解質溶液内には、少なくとも酵素が溶解している。酵素は、一種類以上溶解していてもよい。酵素は、生体組織、微生物中にも存在しているので、生体組織、微生物が電解質溶液中に、溶解、浮遊あるいはコロイド状態等で含まれているものであってもよい。又、電解質溶液中には、上記の酵素、酵素含有物以外に、例えば、グルコース、コレステロール、クレアチニン、トリグリセライド等のあらゆる被測定物質の検出に必要な試薬類が溶解していてもよい。各試薬類は、被測定物質の検出に応じて適宜、選択できる。

網状、多孔質状等の種々の電極形状をとることができる。14は電極11としての導電性薄膜を有する多孔質膜、15は電解質溶液、16は被検液である。

本発明では、酵素、試薬類がセンサー内部に保持されている電解質溶液中に存在しているので、応答速度が遅くなるという問題点があるが、電解質溶液を循環あるいは攪拌等して、強制的に流動させることにより改善される。

次にグルコースの測定を一例として、本発明のセンサーを具体的に説明する。

電解質溶液15中には、GODが溶解している。マイクロシリンジ17により被検液16中へ血液を注入すると、血液中の妨害物質であるアスコルビン酸、尿酸等は、電極11を構成している例えば白金薄膜により電解除去される。一方、血液中のグルコースは、白金薄膜には電気化学的に活性でないため、多孔質膜14を通過して電解質溶液15中に到達する。グルコースは電解質溶液中のGODと反応して H_2O_2 を生成して電極8、例えば、

目的物質を検出する電極系（以後、検出電極系という）と、妨害物質を除去する電極系（以後、除去電極系という）は、作用電極、参照電極、対極の3電極系、あるいは、作用電極と参照電極（対極となる）の2電極系から構成されている。検出電極系の各電極は、センサー内に保持された電解質溶液中にその一部を浸せきしている。除去電極系の構成要素の一つ、すなわち、作用電極として働く導電性薄膜を有する多孔質膜は、被検液側に配置されている。

目的物質とは、被測定物質、例えば、グルコースが単一の酵素、例えば、GOD、あるいは、複数以上の酵素の作用を受けて生成する電気化学的に活性な物質、例えば、 H_2O_2 、あるいは、被測定物質と化学反応により関連しており、かつ、電気化学的に活性な物質である。

第2図において、8、9、10は、検出電極系の作用電極、対極、参照電極である。11、12、13は、除去電極系の作用電極、対極、参照電極である。検出電極系の作用電極は、板状、棒状、

白金電極により検出される。以上によりまったく妨害物質の影響がなく血液中のグルコース濃度を測定できる。

本発明のセンサーは、固定化の困難な補酵素を必要とする一連の脱水素酵素の関与する反応を利用した物質の測定、例えば、乳酸の測定や、固定化が困難な酵素、例えば、アルコールオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、イソクエン酸脱水素酵素、乳酸脱水素酵素、アルデヒド脱水素酵素等を利用したセンサーには特に適している。又、コレステロールオキシダーゼのように高価で固定化が困難な酵素を用いる場合には、センサー内部の電解質溶液中に酵素を含有しているので、1回の測定毎に酵素を捨てる必要がなく繰り返し測定できるのでたいへん経済的で便利である。

以下、実施例を示す。

実施例1

孔径 $0.1\mu m$ 、厚さ $10\mu m$ のポリカーボネート膜の片面に白金をスパッタリングして厚さ約 1000\AA の導電性薄膜を形成した。この薄膜を

第2図の多孔質膜14の位置に組みこんだ。センサーは、固定化の困難なコレステロールオキシダーゼを200mg溶解した P^H 6.0のりん酸緩衝液4mlを電解質溶液15として有している。検出電極系の8および除去電極系の11にそれぞれ+0.6V vs. Ag/AgClの電位を印加した後、マイクロシリンジ17によって血清30 μ lを添加したところ、第3図の応答曲線aが得られた。一方、電極11には電位を印加しないで同様に測定したところ、応答曲線bが得られ、妨害物質による電流値の増加がみられた。

実施例2

孔径1 μ m、厚さ10 μ mのポリカーボネート膜の片面に白金をスパッタリングして厚さ約1000Åの導電性薄膜を形成した。このポリカーボネート膜にさらに孔径3 μ m、厚さ10 μ mのポリカーボネート膜を重ねて2枚の複合膜を構成した。この2枚の複合膜を導電性薄膜を有する面を被検液側に向けて第2図の多孔質膜14の位置に組みこんだ。電解質溶液15はその組成とし

て P^H 8.0のトリス緩衝液、リボプロテインリパーゼ、グリセロキナーゼ、グリセロホスフェートオキシダーゼ、アデノシントリホスフェート、塩化マグネシウムをそれぞれ4ml、0.5mg、0.05mg、0.2mg、1.2mg、1mg含んでいる。

実施例1と同様に電極8および11にそれぞれ+0.6V vs. Ag/AgClの電位を印加した後、マイクロシリンジによって血清30 μ lを添加したところ、血清中のトリグリセライドの濃度に応じた電流値として0.5 μ Aが得られた。次に除去電極系の11に電位を印加しない場合は、応答電流値0.65 μ Aが得られ妨害物質により応答電流値が増加した。

以上のように、本発明によれば、妨害物質の影響がなく、かつ、固定化の困難な触媒物質も利用できるため、精度がよく測定対象物の広いセンサーを提供することができる。

4、図面の簡単な説明

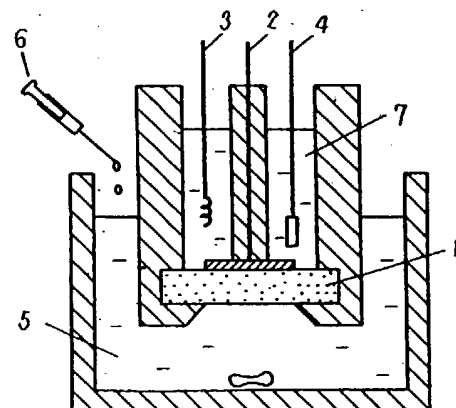
第1図は被検液中に浸せきされている従来のセンサーの断面模式図、第2図は被検液中に浸せき

されている本発明のセンサーの例を示す断面模式図、第3図はセンサーの応答例の比較を示す。

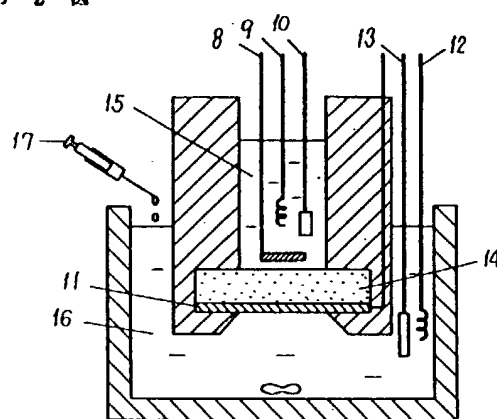
8、9、10……検出電極系、11……導電性薄膜、11、12、13……除去電極系、14……多孔質膜、15……電解質溶液、16……被検液。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

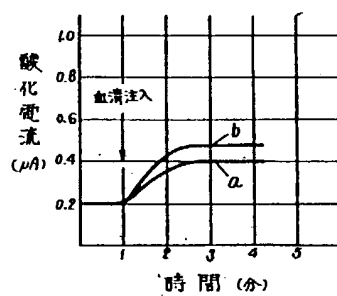
第 1 図



第 2 図



第 3 図



L11 ANSWER 67 OF 82 CA COPYRIGHT 2004 ACS on STN

AN 100:99457 CA

TI Electrochemical sensor with interference-eliminating electrode for biochemical analysis

PA Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Japan

SO Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 5 pp.

PI JP 58171659 A2 19831008 JP 1982-55026 19820401

PRAI JP 1982-55026 19820401

AB An electrochem. sensor system consisting of a detector electrode, an interference-eliminating electrode which is an elec.-conductive thin film, electrolyte-contg. buffer, and enzyme is described. For example, for the detn. of cholesterol, an electrolyte-contg. buffer, cholesterol oxidase, and **detector** electrode system were **placed** in a container which has a porous polycarbonate membrane on the bottom. This container was immersed into a sample soln. The side of the porous membrane which contacts the sample soln. was coated with a thin Pt film as **interference**-eliminating electrode to **remove interference** of, e.g. ascorbic acid, uric acid, etc. While a potential of +0.6 V with respect to a Ag/AgCl electrode was applied between the detector electrode and thin Pt film, a known vol. of serum sample was added to the sample soln. and the current flow was measured. Then without potential application, the current was measured again, and this value was higher than that of the previous current measurement. The increased current corresponds to the amt. of interfering components in the serum sample. Accurate results can be obtained without interference by using the interference-eliminating electrode on the membrane.